

Toulouse 1974

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER

U. E. R. DES SCIENCES MÉDICALES A - PURPAN

Mai 1974

n° 146

THESE

pour le DOCTORAT D'ÉTAT EN MEDECINE

travail du laboratoire de biochimie (Pr. Valdigué), et du laboratoire de physiologie appliquée (Pr Baisset)

présentée et soutenue publiquement en mai 1974

par

Robert MOSNIER

ÉTUDE DES VARIATIONS

de la lacticodéshydrogénase sérique au cours de
la cirrhose éthylique chez l'homme et de l'anesthésie
chez le chien

JURY

MM.	VALDIGUÉ	Président
	MONTASTRUC	Assesseur
	GRIMAUD	Assesseur
	ARBUS	Assesseur
	LEVRAT	Assesseur

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR OBTENIR

le diplôme de Docteur en Médecine

par

M. R. RUFFET

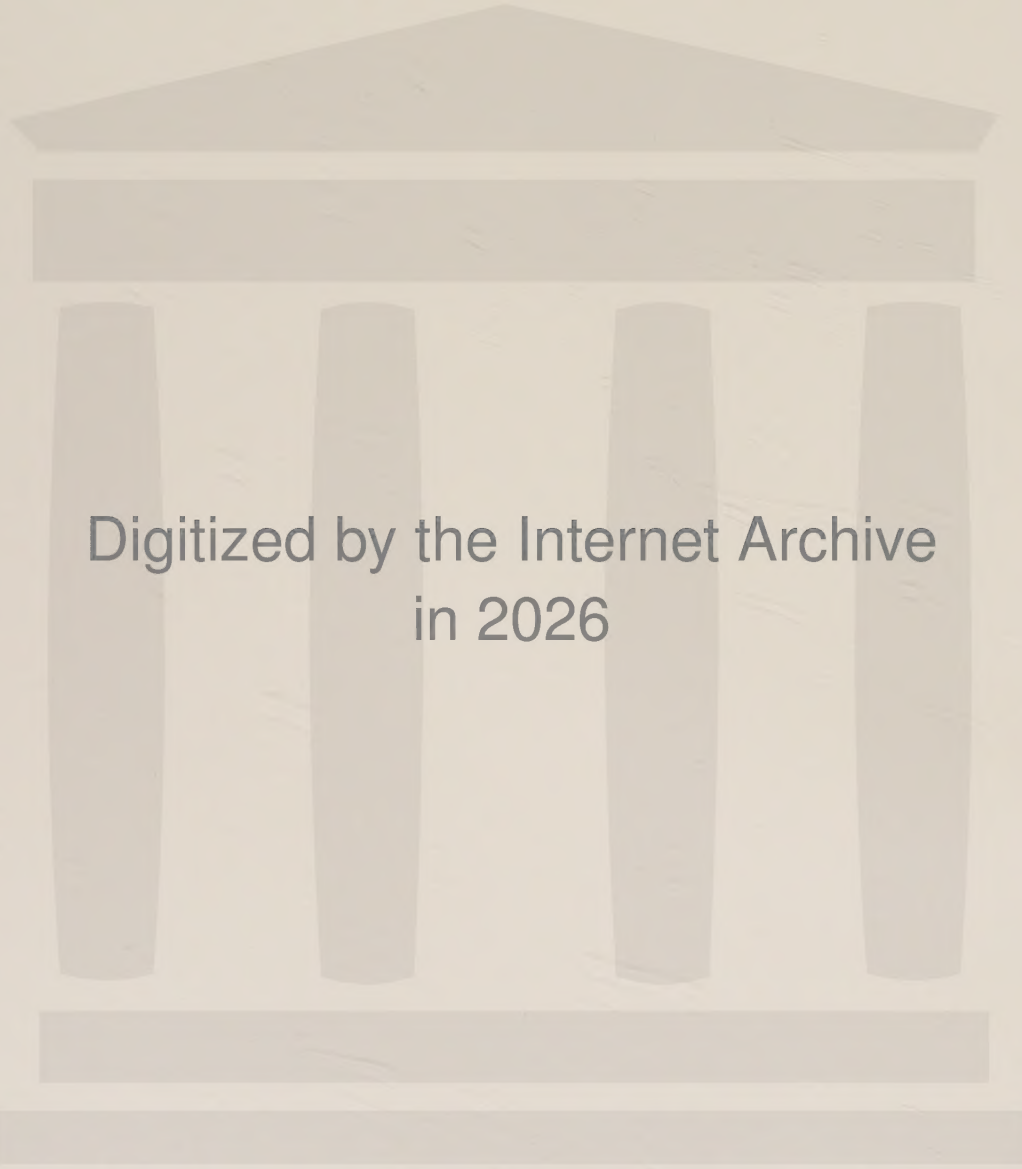
Docteur en Médecine

ÉTUDE DES VARIATIONS

de la lacticodeshydrogénase sérique au cours de
la cirrhose éthylique chez l'homme et de l'anémie
chez le chien

NET

DATE	RECEVUE	PAR



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546624_0017

THESE

pour le DOCTORAT D'ETAT EN MEDECINE

travail du laboratoire de biochimie (Pr. Valdiguié), et du laboratoire de physiologie appliquée (Pr Baisset)

présentée et soutenue publiquement en mai 1974

par

Robert MOSNIER

ÉTUDE DES VARIATIONS

de la lacticodéshydrogénase sérique au cours de
la cirrhose éthylique chez l'homme et de l'anesthésie
chez le chien

JURY

MM.	VALDIGUIÉ	Président
	MONTASTRUC	Assesseur
	GRIMOUD	Assesseur
	ARBUS	Assesseur
	LEVRAT	Assesseur

THESE

PAR LE DOCTEUR EN MEDICINE

ETAT DE LA QUESTION DE LA MALADIE DE LA VESICULE BILIAIRE ET DE LA CHOLELITHIASIS

PAR M. H. H. DES SCIENCES MEDICALES A BRUXELLES

ROBERT WILSON

ETUDE DES VARIATIONS

de la fréquence des lésions biliaires au cours de
la cirrhose éthylique chez l'homme et de l'anesthésie
chez le chien



1934

UNIVERSITEIT
BRUXELLES
FACULTE DE MEDICINE
LIBRAIRIE
M. H. H. DES SCIENCES MEDICALES A BRUXELLES

M. LARENG
M. MATHIS
M. MARLIN

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES MEDICALES

Anatomie Pathologique	M. BOUISSOU	Rangue
Biochimie Medicale	M. DOISTE-BLAZY	Rangue
Dermatologie-Venerologie	M. DUPRE	Rangue
Histologie et Embryologie	M. GUILHEM	Rangue
Histologie et Embryologie	M. PLANET	Purpan
Neurologie et Neuro-Psychologie	M. RASCOL	Purpan
Physiologie et Pharmacologie	M. MONTASTRUC	Purpan
Pneumo-Phthisologie	M. MIGUERES	Rangue
Medecine Interne	M. LE TAILLEC	Rangue
Psychiatrie	M. GAYRAL	Purpan
Ophthalmologie	M. BEC	Purpan

Médecine Générale	M. ARLET	Rangueil
Neuro-Chirurgie	M. ESPAGNO J.	Purpan

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie Pathologique	M. FABRE Jean	Purpan
Bactériologie, Parasitologie, Virologie	Mme LARENG M.B.	Purpan
Biochimie Médicale	M. VALDIGUIE Pierre	Rangueil
Carcinologie	M. ESTRADE	Purpan
Chirurgie Générale	M. GAUBERT	Purpan
Chirurgie Générale	M. SARRAZIN	Rangueil
Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. ESCHAPASSE	Purpan
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BES	Rangueil
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BOLLINELLI	Purpan
Médecine Générale Thérapeutique	M. SUC	Rangueil
Médecine Générale	M. RIBET	Rangueil
Physiologie	M. GERAL	Rangueil

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie Pathologique	M. RUMEAU J.L.	Rangueil
Anesthésiologie	M. VIRENQUE C.	Rangueil
Bactériologie-Virologie	Mme DIDIER	Rangueil
Biophysique	M. REGIS	Rangueil
Biophysique	M. GUIRAUD R.	Purpan
Cancérologie	M. CARTON M.	Rangueil
Cardiologie	M. BERNADET	Rangueil
Cardiologie	M. BOUNHOURE	Rangueil
Chirurgie Générale	M. ESCAT J.	Rangueil
Chirurgie Générale	M. GOUZI	Rangueil
Chirurgie Générale	M. COSTAGLIOLA	Purpan
Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. PUEL	Rangueil
Gynécologie et Obstétrique	M. PONTONNIER G.	Rangueil

Hépto-Gastro-Entérologie	M. PASCAL	Purpan
Histologie, Embryologie, Cytogénétique	M. SOLEILHAVOUP	Purpan
Médecine Interne	M. FEDOU R.	Purpan
Médecine du Travail	M. PUJOL M.	Purpan
Néphrologie	M. CONTE J.	Purpan
Neurochirurgie	M. LAZORTHES Y.	Rangueil
Neurologie	M. GUIRAUD-CHAUMEL	Purpan
O.R.L.	M. LACOMME	Purpan
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie	M. UTHEZA G.	Purpan
Plastique		
Parasitologie	M. LARROUY	Purpan
Pédiatrie Génétique Médicale	M. ROCHICCIOLI	Rangueil
Pneumo-Phtisiologie	M. ALBAREDE J.L.	Purpan
Pneumo-Phtisiologie	M. JOVER	Rangueil
Physiologie	M. PAGES B.	Purpan
Psychiatrie	M. MORON P.	Rangueil
Radiologie	M. COMBES P.	Purpan
Radiologie	M. PUTOIS	Purpan
Rhumatologie	M. FOURNIE A.	Purpan
Thérapeutique, Réanimation Médicale,	M. SALVADOR M.	Purpan
Rééducation fonctionnelle et Hydrologie		
Urologie	M. PONTONNIER F.	Purpan

AGREGES LIBRES

Chirurgie Générale	M. SOUQUET	Purpan
Pathologie Expérimentale	M. GLEIZES	Purpan
Obstétrique	M. ESPAGNO G.	Rangueil

ADMINISTRATION

Secrétaire Général de l'Université	M. PRINEAU
------------------------------------	------------

Liste arrêtée le 17 10 1973

A MON PERE

A MA MERE

A MES GRANDS PARENTS

A MES SOEURS

A MON BEAU-FRERE

A MES NEVEUX

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Paul VALDIGUIE

Professeur de Biochimie Médicale
Biologiste des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Qui nous a fait le très grand
honneur d'inspirer notre travail
et de présider la soutenance de
cette thèse.

Nous sommes heureux de remercier
notre Maître de la confiance qu'il
nous a témoignée, de ses conseils
et de sa sollicitude au cours de
nos études et des années passées
dans son service.

Nous l'assurons de notre respec-
tueux attachement et de notre dé-
vouement.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL MONTASTRUC

Professeur de Physiologie et de
Pharmacologie

Vous nous avez témoigné
votre confiance et guidé
tout au cours de nos études
médicales.
Qu'il me soit permis de vous
exprimer tous mes remercie-
ments.

MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMOUD

Professeur de clinique chirurgicale et du Cancer
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Nous sommes très sensibles et
très honorés de vous compter
aujourd'hui parmi nos juges.
Veuillez trouver ici, l'ex-
pression de notre profonde
gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR ARBUS

Professeur Agrégé de Médecine légale

Vous avez bien voulu faire
partie de notre jury.
Nous vous exprimons toute
notre sincère reconnaissance.

MONSIEUR LE DOCTEUR LEVRAT

Chargé de cours à la Faculté

Vous avez accepté d'être
suppléant dans notre jury.

Nous vous en remercions très
sincèrement.

AUX INFIRMIERES ET INFIRMIERS DE L'HOPITAL PSYCHIATRIQUE
D'AUCH.

Vous nous avez aidé dans
notre travail.

Veuillez trouver ici l'ex-
pression de notre profonde
gratitude.

A MADEMOISELLE Marie-France DIRAT

A MONSIEUR TRAN VAN LAN

Vous nous avez conseillé et
guidé dans la réalisation de
cet ouvrage.

Avec tous nos remerciements.

AUX PERSONNELS DES LABORATOIRES DE BIOCHIMIE ET
PHYSIOLOGIE DE LA FACULTE DE MEDECINE DE TOULOUSE.

Nous vous remercions de
votre extrême affabilité et
de votre dévouement à notre
égard.

P L A N
=====

PREMIERE PARTIE

Cirrhose Ethylique

Introduction
Structure et Propriétés
Techniques et Prélèvement
Résultats
Interprétations
Conclusion.

DEUXIEME PARTIE

Anesthésie chez le chien

Introduction
Techniques et Prélèvement
Résultats avec le PENTOBARBITAL
Interprétation
Résultats avec la CHLORALOSE
Interprétation
Conclusion.

PREMIERE PARTIE

CIRRHOSE ETHYLIQUE

VARIATIONS DE LA L.D.H.

I N T R O D U C T I O N

=====

La L. Lactico-déshydrogénase est une enzyme cellulaire universellement répandue dans le règne animal.

Elle entre dans le groupe des oxydo-réductases, enzymes qui catalysent le transfert des protons et des électrons, groupe exprimé par le chiffre 1 dans la classification internationale.

Le groupement donneur est représenté par la fonction alcool secondaire du lactate, groupement -CHOP - appartenant à la sous-classe également désignée par le chiffre 1.

Le groupement accepteur est le coenzyme 1, N.A.D.⁺-oxydé qui sera réduit en N.A.D.H. + H⁺ -sous sous-classe 1).

Enfin, la L.D.H. est la vingt-septième enzyme du groupe des oxydo-réductases. L'enzyme est alors désignée par les lettres :

STRUCTURE.

La L.D.H. est une hétéroprotéine renfermant deux parties :

- 1 - l'Apoenzyme ou constituant protéique support du site actif,
- 2 - le Coenzyme, groupement prosthétique (nicotinamide - adénine - dinucléotide) ou N.A.D.⁺ qui reçoit protons et électrons.

1 - L'apoenzyme est une protéine relativement complexe dont le poids moléculaire est de 135 000 pour l'enzyme du coeur de bœuf, NEILANDS (44), 127 000 pour celui du coeur de porc, PFLEIDERER et JECKEL (52), 140 000 $\pm$ 4 000 pour la L.D.H. du coeur de l'homme, NISSELBAUM et BODANSKI (47).

- Sa teneur en acides aminés a été déterminée par GIBSON et ses collaborateurs (21) ; Lysine, Leucine, Valine et acide aspartique sont parmi les plus abondants.

Enfin, la Lactico-déshydrogénase contient des fonctions thiols. Quatre sont indispensables pour l'action enzymatique et sont constituants du site actif, zone privilégiée où a lieu la fixation enzyme-substrat.

2 - le Coenzyme N.A.D.⁺ fait partie du groupe des coenzymes mixtes car il renferme dans sa structure à côté d'un nucléotide de l'AMP une vitamine, la vitamine P P ou Nicotinamide entrant dans le cadre des vitamines du groupe B. C'est le premier coenzyme connu (HARDEN et YOUNG 1906). Il fut isolé par VON EULER en 1931.

Le mode et le lieu de liaison qui unissent les deux fractions apoenzymatique et coenzymatique sont encore incomplètement élucidés.

PROPRIETES.

Instable dans les solutions dépourvues de sels, elle est stable dans les solutions salines de pH compris entre 5,0 et 8,5 STRAUB.(78)

Son pH optimum est de 7,5 pour la transformation du pyruvate en lactate, de 9 pour la formation du lactate.

Elle a une mobilité électrophorétique et se dirige vers l'anode à pH 8,7.

Enfin, elle présente une spécificité de substrat : elle n'agit que sur l'acide L + Lactique, NEILANDS (43).

ACTION DE LA LACTICODÉSHYDROGENASE - PLACE AU SEIN DU METABOLISME.

La lacticodéshydrogénase est une enzyme terminale de la glycolyse qui assure la dégradation anaréobie du glucose, et dont l'aboutissement est le lactate.

L'ensemble de ces réactions a lieu dans le cytoplasme cellulaire où a pu être isolé l'enzyme.

Elle catalyse la transformation du pyruvate en lactate ou inversement dans des conditions :

1°) de concentration des substrats en présence, concentration régie par la loi d'action de masse et déterminée par la constante de MICHAELIS (42)

2°) de température : l'activité maximum est pour une température aux alentours de 37°.

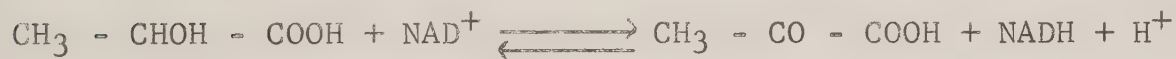
3°) de pH et enfin de force ionique, attraction électrostatique du milieu environnant.

Il s'agit donc d'une oxydo-réduction selon la réaction suivante :



Coenzyme Oxydé

Coenzyme réduit



La LDH est une enzyme dont le mode d'action révèle une spécificité de substrat et une spécificité d'action.

ACTION DES EFFECTEURS ENZYMATIQUES.

On désigne sous ce terme toute substance qui modifie dans un sens ou dans un autre une action enzymatique :

a) soit en plus : Activateurs

b) soit en moins : Inhibiteurs.

a) Activateurs

Ils sont actuellement bien connus pour certaines enzymes. Cl^- pour amylase et Hg^{++} pour ATP. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature des activateurs de la LDH.

Certains tampons qui maintiennent le pH à sa valeur optimum ont été proposés à tort comme des activateurs.

b) Inhibiteurs

On les classe selon qu'ils dénaturent ou non l'enzyme en réversibles et irréversibles et pour les premiers selon leur mode d'action en compétitifs ou non compétitifs.

Trois groupes de substances sont actuellement reconnus :

- 1°) Substrats et composés analogues aux substrats,
- 2°) Coenzymes et corps analogues,
- 3°) Autres composés.

1°) SUBSTRATS

L'inhibition par les substrats est avant tout réalisée par un excès de pyruvate à partir d'une certaine concentration.

Il y a compétition pour la fixation sur le site actif. Il s'agirait d'une inhibition compétitive portant sur l'enzyme par la fixation au substrat sur le site actif mais aussi sur d'autres repères de l'enzyme.

Composés analogues aux substrats

Inhibition compétitive par analogie avec le substrat

Les oxamates entrent en compétition avec le pyruvate ; les malonates et les tartronates avec le lactate.

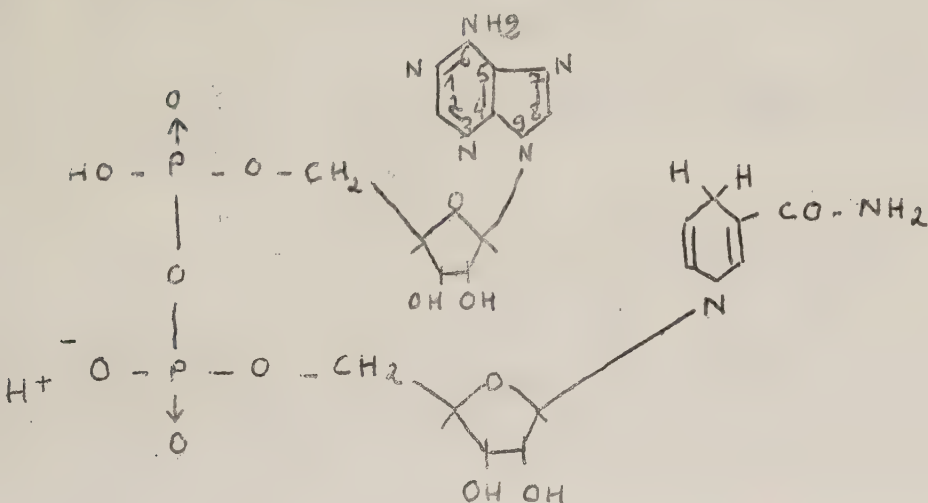
Inhibition non compétitive sur le substrat

Les iodures oxydent les fonctions SH.

Les ions Hg^{++} et le p-chloro-mercurebenzoate bloquent les groupements SH du site actif.

2°) COENZYMES ET CORPS ANALOGUES

Le N.A.D.H. en grand excès est également inhibiteur ainsi que certains de ses dérivés substitués. Le 3 Benzoyl-pyridine et la thio-nicotinamide.



3°) AUTRES COMPOSES

Inhibition par dénaturation de la Protéine

Outre la chaleur, il nous faut citer l'urée à forte concentration, les solvants organiques, acétone et chloroforme en particulier qui agissent en précipitant les protéines.

LES ISOENZYMES DE LA LACTICODESHYDROGENASE

Les isoenzymes sont des protéines enzymatiques, de constitution voisine, possédant la même action catalytique mais qui diffèrent entre elles par un certain nombre de propriétés physico-chimiques permettant ainsi leur séparation :

formes cristallines différentes, migration chromatographique et électrophorétique et certains caractères immunologiques.

Elles paraissent provenir d'un contrôle génétique différent, deux gènes de structure étant impliqués dans leur synthèse : VESELL (87) URIEL (83).

La lacticodéshydrogénase a été la première enzyme reconnue hétérogène. WIELAND et PFLEIDERER (93) trouvent quatre puis cinq fractions protéiques actives dans les divers organes. Ces résultats ont été confirmés par la suite et montrent dans les organes de l'homme et des animaux supérieurs cinq isoenzymes à activité de lacticodéshydrogénase.

De nombreuses autres enzymes furent ensuite reconnues formées de plusieurs isoenzymes : Malico-déshydrogénase, Phosphatases, Ribonucléase.

CARACTERES DES DIVERSES ISOENZYMES

Les cinq isoenzymes de la LDH sont constituées par l'association de quatre subunités. Celles-ci sont de deux types et appelées H et S par WIELAND et PFLEIDERER (93), H et M par CAHN, KAPLAN, LEVINE et ZWILLING. (9)

Les cinq combinaisons possibles résultant de l'association de quatre subunités de type H et M peuvent être représentées comme suit, KAPLAN (32).

H₄ H₃M H₂M₂ HM₃ M₄

Les abréviations LDH₁, LDH₂ ont aussi été adoptées par VESELL (89) et par d'autres auteurs utilisant la séparation électrophorétique, les cinq isoenzymes sont alors :

LDH₁ LDH₂ LDH₃ LDH₄ LDH₅

Les lacticodéshydrogénases tétramères peuvent être dissociées en leurs quatre subunités par l'urée et la guanidine, APPELLIA et MARKERT (1).

REPARTITION SELON LES TISSUS

La répartition des isoenzymes de la LDH est très variable suivant les tissus.

Le muscle cardiaque contient plus de la moitié de ses LDH totales à l'état de H₄ ou LDH₁.

Les muscles squelettiques ont soit une quasi totalité de leur LDH sous forme de M₄ soit une large prédominance de cette forme à côté de M₃H et M₂H₂.

Le rein contient peu de LDH₁ et LDH₂ et des proportions à peu près identiques de LDH₃, LDH₄ et LDH₅, WIEME et VAN MAERCKE (98).

Le cerveau contient en quantités voisines les quatre formes : H₄, H₃M, H₂M₂ et HM₃, LOWENTHAL, VAN SANDE et KARCHER (36).

Le foie contient comme les muscles une forte prédominance de LDH₅.

Ces diverses isoenzymes sont présentes dans le sérum normal en petites quantités. Elles sont inégalement réparties dans les diverses fractions protéiques et prédominent dans certaines d'entre elles :

- la fraction II (Pré β globulines et lipoprotéines)
- et la fraction III (γ globulines). Elles contiennent 95 % des LDH sériques. Les globules par contre contiennent 160 fois plus de LDH que le sérum.

Il est facile de déduire que la présence dans le sang, à des taux anormalement élevés de certaines fractions isoenzymatiques, peut révéler la localisation tissulaire d'un processus pathologique.

SIGNIFICATION METABOLIQUE.

La diversité des isoenzymes de la LDH est en rapport avec le métabolisme des cellules qui les forment, DAWSON, GOODFRIEND, KAPLAN (14).

Le muscle cardiaque a un métabolisme principalement aérobie : il contient surtout la forme H₄ qui est inhibée par de faibles doses de pyruvate.

Dès que celui-ci est formé dans le coeur, il ne sera pas hydrogéné en lactate mais métabolisé par le cycle citrique. URIEL (83).

Les muscles du squelette, au contraire, contiennent surtout la forme M₃H et M₄, ils sont destinés à la production d'acide lactique par un métabolisme anaérobie.

SEPARATION DES ISOENZYMES

Leurs différences de propriétés ont permis à la fois leur isolement et leur étude séparée.

Deux méthodes ont été utilisées :

- 1°) - la migration électrophorétique
- 2°) - la chromatographie par échange d'ions.

Electrophorèse

L'électrophorèse est basée sur le principe de la séparation des différentes fractions enzymatiques grâce à leur vitesse de migration inégale dans un champ électrique.

Elle a été réalisée sur papier, sur papier en courant continu sur amidon, gel d'amidon et sur acétate de cellulose.

Cette dernière méthode est actuellement la plus utilisée, la migration est rapide et la séparation est bonne. Les membranes d'acétate de cellulose sont homogènes et facilement rendues transparentes BARNETT (3).

Chromatographie

Certaines difficultés de technique et la lenteur à obtenir les résultats ont fait qu'actuellement ces méthodes ont été partiellement abandonnées au profit de l'électrophorèse.

DOSAGE DE LA LACTICO DESHYDROGENASE

METHODES ET PRINCIPES
- - - - -

Nous avons utilisé pour méthode de dosage de la LDH sérique totale : l'absorption par la lumière ultra-violette de la forme réduite du coenzyme NADH.

Cette absorption est maximum à 340 m μ . La forme oxydée du NAD ne montre pas d'absorption à cette longueur d'onde.

Dans cette méthode, l'activité enzymatique est déterminée, non par la mesure du pyruvate disparu comme dans la méthode colorimétrique mais par celle du NADH oxydé.

METHODE ET MATERIEL.

On utilise une solution de pyruvate dans un tampon phosphate et une solution de NADH dans le même tampon. Il est commode et simple d'employer des réactifs préparés. Nous avons choisi les réactifs BOEHRINGER.

Le spectrophotomètre utilisé est le "BECKMANN" DU qui permet de suivre instantanément la disparition de NADH.

La lecture de la densité optique est faite immédiatement en même temps que l'on déclenche un chronomètre. Puis on lit la densité optique toutes les minutes pendant trois minutes.

Note - Nous rappelons que le dosage des LDH sériques n'est valable que pour un sérum non hémolysé puisque les globules sont 160 fois plus riches que le plasma.

Cela demande que le dosage soit fait dans les quatre heures qui suivent le prélèvement sinon le sérum doit être congelé.

TECHNIQUE.

Les isoenzymes sont séparées par électrophorèse simple sur acétate de cellulose, puis la bande est incubée avec du lactate de sodium et un médiateur d'oxydo-réduction qui se colore en se réduisant parallèlement à l'oxydation du lactate.

Pour comparer certains résultats nous avons utilisé l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

1°) Electrophorèse

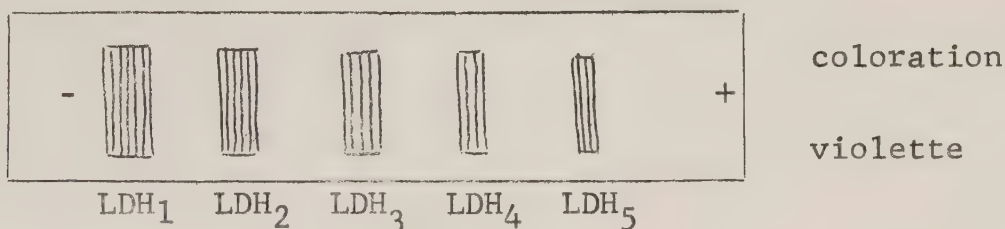
L'électrophorèse est pratiquée sur bande d'acétate de cellulose gélifié (Cellogel) dans les conditions standard qui permettent la séparation des protéines plasmatiques.

2°) Révélation des isoenzymes

On fait incuber les bandes avec du lactate de sodium que l'enzyme transforme en pyruvate tandis que le NAD est réduit. Ce coenzyme est réoxydé par le phénazine-méthosulfate qui se réduit à son tour pour être réoxydé par le Méthyltriphényl tétrazolium. Celui-ci qui est incolore à l'état oxydé devient violet à l'état réduit.

La plupart des réactifs sont préparés extemporanément, le pH de la solution doit finalement être compris entre 7,2 et 7,7.

Le mélange de réactifs est utilisé pour imbiber des bandes de papier filtre à grain fin de même longueur que les bandes de Cellogel. Ces bandes appliquées de part et d'autre de chaque bande de Cellogel en sandwich, permettront la révélation. Les sandwiches sont disposés dans une chambre humide, maintenue à la température de 37° C. Les réactifs diffusent parfaitement des papiers filtres au Cellogel.



Au bout de 30 minutes, les bandes sont sorties de l'incubateur. La bande de Cellogel, débarassée des bandes de papier filtre est plongée dans une solution de glycérol, aldéhyde formique et eau pendant dix minutes. Celle-ci fixe provisoirement le Cellogel dont la transparence est suffisante dès ce moment pour permettre un examen densitométrique.

Chaque bande violette, correspondant à une isoenzyme, donne sur le tracé un pic aigu d'aspect gaussien, dont les largeurs sont sensiblement égales.

Les bandes ne doivent pas être laissées plus de 2 heures dans la solution de glycérol et d'aldéhyde formique car elles se décolorent.

Utilisation d'un témoin

Une solution témoin de lactico-déshydrogénase purifiée de muscle de lapin est soumise parallèlement à toutes les opérations décrites ci-dessus. Ce témoin permet de vérifier nos réactifs et également sert de base de comparaison entre les résultats obtenus à des dates différentes.

VALEURS NORMALES DE LA LACTICO-DESHYDROGENASE SERIQUE

Les méthodes de dosage ont permis de connaître les valeurs physiologiques de la LDH dans le sang.

Le taux sérique de celle-ci a été diversement exprimé car plusieurs unités ont été choisies par certains auteurs.

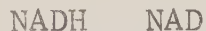
Ce sont :

- 1'unité internationale
- 1'unité SCHWARZ et BODANSKY (73)
- 1'unité WROBLEWSKI (101)
- 1'unité KORNBERY
- 1'unité RACKER (71)
- 1'unité BUCHER (6)

Unité internationale

Elle est la plus importante.

Cette unité officielle utilise le changement d'absorption à 340 m μ lié à la conversion



Elle est la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une molécule de substrat par minute à la température de 25° et dans les conditions optimales de pH et de concentration du substrat.

Elle est rapportée à 1 millilitre de sérum, μ moles/min/ml.

Les valeurs normales indiquées par BOEHMINGER pour leurs réactifs servant à la détermination de la LDH par absorption UV sont inférieures à 195 milliunités internationales par ml de sérum.

TRAVAUX ANTERIEURS.

Au cours des cirrhoses, divers auteurs ont étudié les

LDH contenues dans le tissu hépatique et les ont comparées aux LDH plasmatiques. Les isoenzymes prédominant dans le foie sont celles qui migrent lentement c'est-à-dire les isoenzymes LDH₄ et LDH₅. Ce sont elles dont on peut dans l'ensemble noter l'élévation dans le plasma au cours des maladies du foie.

CIRRHOSES

Il est difficile d'avoir une opinion générale sur le profil des isoenzymes de la LDH au cours des cirrhoses.

Divers auteurs CAWLEY, EBERHARDT, DEMEULENAERE (103) considérant de très courtes séries de cas, font état de la LDH₅ dans les hépatites.

D'autres WRIGHT (103) signalent une élévation plus nuancée des trois premières, LDH₁ - LDH₂ - LDH₃ et de la dernière isoenzyme LDH₅ comme dans l'infarctus.

En conclusion, selon les cas, le cirrhotique aura des isoenzymes de la LDH ressemblant à celles du sujet porteur de coronarite ou du sujet porteur d'hépatite diminuant la valeur sémiologique des premières sans apporter un profil spécifique.

TRAVAUX PERSONNELS

L'étude des travaux que nous venons de rapporter ne permet pas de résoudre définitivement le problème de l'élévation préférentielle de l'une ou de plusieurs isoenzymes de la LDH au cours des cirrhoses.

Ainsi, si les auteurs s'accordent de façon unanime sur l'élévation de la LDH₅ leurs conclusions sont plus nuancées en ce qui concerne l'élévation des trois premières isoenzymes.

Il faut cependant apporter deux types de remarques :

La discordance des travaux antérieurs résulte en premier lieu d'études portant sur des types de cirrhose différents.

Il est certain que l'élévation est beaucoup plus marquée au cours des cirrhoses post-hépatitiques où l'altération de l'hépatocyte est majeure que dans les cirrhoses éthyliques.

L'évolution d'une cirrhose et son éventuel retentissement sur la cellule hépatique modifient aussi les résultats.

Il convient donc d'affirmer que l'élévation de la LDH dépendra de l'étiologie et de la structure histologique de la cirrhose.

Pour ces raisons, nous nous sommes contentés d'étudier les variations des isoenzymes de la LDH au cours de la cirrhose éthylique.

Notre travail porte sur vingt malades d'âge et de sexe différents mais dont l'imprégnation éthylique remontait à une dizaine d'années au moins.

I - RECHERCHES CLINIQUES, BIOCHIMIQUES, ANATOMO-PATHOLOGIQUES.

Il nous fallait avant tout affirmer la cirrhose et son étiologie éthylique. Or nul n'ignore que le diagnostic de certitude ne peut être apporté que par l'anatomie ce qui nécessite la pratique de la laparoscopie avec ponction biopsie hépatique si l'hémostase est correcte.

On définit alors trois stades selon le degré d'évolution d'imprégnation éthylique :

1°) Stéatose : foie hypertrophié, de couleur jaune chamois à bord inférieur arrondi. A la coupe, présence de micro-vacuoles déformant l'hépatocyte où les graisses ont été dissoutes par les colorants. Ce stade est réversible.

2°) Stade de fibrose : avec perte en quelques endroits seulement de l'architecture histologique, l'atteinte de l'hépatocyte est minime.

3°) Stade de cirrhose : foie d'aspect verdâtre, de taille et de forme variable, à la coupe déformation de l'architecture de type micronodulaire et présence de nodules de régénération.

II - RECHERCHES CLINIQUES.

L'anomalie clinique principale est la modification du volume du foie.

Dans un certain nombre de cas, il est hypertrophié. Il est alors ferme ou dur avec bord inférieur tranchant, habituellement indolore.

Parfois cependant, il n'est pas palpable en raison de son atrophie.

On retrouve, mais de façon inconstante, certains signes d'insuffisance hépato-cellulaire : subictère conjonctival, angiomes stellaires, érythrose palmaire, flapping tremor, ou d'une hypertension portale; splénomégalie et circulation collatérale abdominale de type porto-cave.

III - LA BIOLOGIE.

Elle est peu ou pas perturbée.

En plus d'une rétention anormale de la BSP constamment retrouvée, on a noté dans certains cas :

1°) des signes d'insuffisance hépato-cellulaire : hypoalbuminémie et diminution des différents éléments du complexe prothrombique,

2°) des signes d'inflammation : hypergamma globulinémie et positivité du test de MAC LAGAN.

3°) l'absence de signes rétentionnels : les phosphatases alcalines étant normales.

Les transits gastro-duodénaux pratiqués ont montré outre l'absence de varices oesophagiennes, sauf un cas, la présence de signes de la série gastritique, six cas.

Douze de nos malades répondaient à une telle description de cirrhose compensée.

Les huit autres présentaient des complications à type d'ascite généralement peu abondante avec modification de l'ionogramme et rétention azotée toujours inférieure à 1 g. Deux présentaient par ailleurs des oedèmes des membres inférieurs attribués à la rétention sodée et à la compression de la veine cave inférieure ; enfin on a noté des troubles neurologiques divers : deux polynévrites sensitives motrices avec troubles trophiques d'origine neurogène et états prédéméntiels.

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT.

Nous avons pratiqué pour chaque malade à jeun un prélèvement de sang veineux, par ponction au niveau du pli du coude avec utilisation d'un garrot.

Pour des raisons de commodité, il est préférable que ce prélèvement soit réalisé sur un tube de verre, flacon sec, donc en l'absence notamment de tout anti-coagulant. Il doit être de 3 à 5 ml de sang que l'on soumet dans les 4 heures à venir afin d'éviter les risques d'hémolyse, à la centrifugation. Le sérum, 1 à 2 ml est alors recueilli dans des tubes à hémolyse placés au réfrigérateur à 4° C et le dosage doit être fait dans les 24 heures pour empêcher tout risque de dénaturation de l'enzyme.

RESULTATS DU DOSAGE DE LA LDH PLASMATIQUE TOTALE

Dans un premier temps de notre expérimentation nous avons dosé la LDH plasmatique totale par spectrophotométrie : en utilisant les réactifs BOEHRINGER : les valeurs normales de LDH plasmatiques obtenues par cette méthode sont inférieures ou égales à 195 mU internationales par ml de sérum.

CIRRHOSSES COMPENSEES

normalement 195 mU Int.

MALADE	AGE	RESULTAT
NAR.....	55 ans	245 mU Int.
GAS.....	66	239
TOU.....	43	228
CUT.....	62	286
TRI.....	33	200
DAL.....	46	200
PAR.....	53	235
DIR.....	50	260
BUI.....	72	280
DEL.....	67	285
OLI.....	65	295
DUR.....	58	266

CIRRHOSES DECOMPENSEES

MALADES	AGE	DIAGNOSTICS	RESULTATS
LAU...	63 ans	Ascite + Polynévrite sensitivo-motrice	295 mU Int.
VIT...	64 ans	Ascite + Oedème membres inférieurs	315
DUS...	56 ans	Ascite + infection pulmonaire à répétition	286
MOR...	68 ans	Ascite + troubles du rythme (Myocardite alcoolique)	305
DAR ..	72 ans	Gastrite + Anémie + trou- bles psychiques	439
SOM...	57 ans	Ascite + Epilepsie post éthylique	382
TIM...	63 ans	Gastrite + Ascite Oedème membres inférieurs	334
PUD...	78 ans	Delirium tremens + Poly- névrite motrice	295

INTERPRETATION DES RESULTATS.

Les valeurs moyennes obtenues au cours des cirrhoses compensées et décompensées sont respectivement les suivantes :

1°) - cirrhoses compensées valeur moyenne = 250 mU

2°) - cirrhoses décompensées valeur moyenne = 330 mU

Ces moyennes correspondent par rapport aux valeurs normales :

- à une élévation d'environ 30 % au cours des cirrhoses compensées,

- et à une élévation d'environ 60 % au cours des cirrhoses décompensées.

Il est à noter la discordance entre les résultats obtenus entre les deux types de cirrhose, et qui peut s'expliquer par l'altération majeure de l'hépatocyte.

Dans le cas des cirrhoses compensées l'élévation de la LDH se retrouve 10 fois sur 12 ce qui correspond à un pourcentage de 83 %.

Dans le cas des cirrhoses décompensées l'écart entre les extrêmes paraît important. Il ne semble cependant pas qu'on puisse attacher à cet écart une quelconque valeur quant au pronostic de la maladie.

EN CONCLUSION :

Nous pouvons retenir qu'au cours des cirrhoses éthyliques, nous retrouvons dans près de 100 % des cas une élévation constante de la LDH plasmatique, élévation d'autant plus marquée qu'il existe une détérioration de l'état général due à la décompensation de la cirrhose.

DOSAGE DES DIFFERENTES FRACTIONS DE LA LDH AU COURS DE LA CIRRHOSE ETHYLIQUE.

INTERET.

Dans un second temps de notre expérimentation, nous avons dosé les fractions LDH_3 - LDH_4 - LDH_5 par spectrophotométrie, après absorption préalable de LDH_1 et LDH_2 à l'aide des réactifs BOERHINGER.

Ces deux fractions migrent différemment à l'électrophorèse et classiquement l'équilibre obtenu entre les fractions lentes (LDH_4 LDH_5) et rapides (LDH_1 LDH_2) va refléter le métabolisme intermédiaire du tissu hépatique étudié.

Cette division en deux groupes repose sur des constatations biochimiques éprouvées.

PLAGEMAN, GREGORY et WROBLEWSKI (1960) (54) ont démontré que la LDH_5 , continue à exercer son activité à une concentration de pyruvate dix fois plus forte que la concentration optimale pour la LDH_1 . Un excès de pyruvate inhibera la LDH_1 plutôt que la LDH_5 . Certains auteurs (BONAVITA - 1965) (15) ont d'ailleurs utilisé cette caractéristique pour différencier les différentes formes de la lacticodéshydrogénase. Dans un tissu présentant une bonne oxygénation, la LDH_1 prédomine, tandis que la LDH_5 se retrouve surtout dans les tissus où il y a production d'acide lactique comme dans le muscle strié.

PFLEIDERER et WACHSMUTH (1965) (53) croient pouvoir conclure que les LDH_1 LDH_2 LDH_3 représentent la glycolyse aérobie tandis que la LDH_4 et la LDH_5 reflètent plutôt la glycolyse anaérobie. C'est ainsi que la LDH_1 et LDH_2 sont parfois appelées les fractions aérobies de la lacticodéshydrogénase et la LDH_4 et la LDH_5 les fractions anaérobies.

La LDH_5 va donc catalyser davantage la réaction acide pyruvique $\longrightarrow$ acide lactique. La LDH_1 par contre favorise la réaction acide lactique $\longrightarrow$ acide pyruvique ; ce dernier s'engage vers le cycle de KREBS entraînant une production d'énergie beaucoup plus élevée.

La LDH_1 qui est retrouvée dans le muscle cardiaque permettra au cœur d'extraire du lactate du sang artériel et de l'oxyder en pyruvate pour le dégrader dans le cycle de KREBS (GOODFRIEND et KAPLAN - 1965) (14).

SIGNIFICATION DIAGNOSTIQUE ET APPLICATIONS CLINIQUES DES ISOENZYMES DE LA LDH.

Selon les méthodes de dosage et les techniques employées, il existe une variation entre les taux de LDH rencontrés mais les pourcentages demeurent voisins.

Nous rappelons les pourcentages des différentes fractions isoenzymatiques trouvées dans le sérum humain normal. D'après VAN DER HELM (25) le sérum humain normal contient les fractions suivantes de la lacticodéshydrogénase :

LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
42,6 %	41,1 %	12,1 %	3,2 %	0 à 1 %

Les modifications des valeurs normales indiquées peuvent être causées par la nécrose du tissu hépatique (WIEME et DEMEULENAERE - 1959 - 1965 (94) (WIEME et VAN MAERCKE - 1961) (98) ou celle du muscle cardiaque (VESELL et BEARN, WIEME) (88).

Les données diagnostiques utilisant les valeurs des isoenzymes de la LDH trouvent actuellement leur application la plus fréquente en clinique : dans l'infarctus du myocarde, l'élévation sérique de la LDH₁; dans la nécrose hépatique, l'élévation sérique de la LDH₅.

RESULTATS OBTENUS APRES ABSORPTION DE LA LDH CARDIAQUE LDH 1 + 2

CIRRHOSES COMPENSEES.

1) LDH HEPATIQUE.

MALADES	AGE	RESULTATS
NAS...	55 ans	150 mU Int
GAS...	66	145
TOU...	43	140
CUT...	62	165
TRI...	33	90
DAL	46	110
PAR...	53	140
DIR...	50	155
BUI...	72	180
DEL	67	180
OLI...	65	190
DUR...	58	165

CIRRHOSES DECOMPENSEES

1) LDH HEPATIQUE.

MALADES	AGE	RESULTATS
LAU...	63 ans	180 mU Int
VIT...	64	195
IUM...	56	190
MOR...	68	190
DAR...	72	200
SOM...	57	205
TIM...	63	195
PUD...	76	180

CIRRHOSSES DECOMPENSEES : 8 CAS

NOM	AGE	LDH TOTALE	LDH TYPE HEPATIQUE	LDH TYPE MYOCARDIQUE
LAU...	63 ans	295	180	115
VIT...	64	315	195	120
DUM...	56	286	190	96
MOR...	68	305	190	115
DAR...	72	439	200	229
SOM...	57	382	205	177
TIM...	63	334	195	139
PUD...	76	295	180	105

Reprenons sur un même tableau l'ensemble des résultats obtenus :

A) CIRRHOSSES COMPENSEES : 12 cas

NOM	AGE	LDH TOTALE	LDH TYPE HEPATIQUE	LDH TYPE MYOCARDIQUE : 50 à 70 %
NAR...	55 ans	245	150	95
GAS...	66	239	145	94
TOU...	43	228	140	88
CUT...	62	286	165	121
TRI...	33	200	90	110
DAR...	46	200	110	90
PAR...	53	235	140	95
DIB...	50	260	155	105
DEB...	67	285	180	105
BUI...	72	280	180	100
OLI...	65	295	190	105
DUR...	58	266	165	101

INTERPRETATION DES RESULTATS.

A) CIRRHOSES COMPENSEES.

1°) Nous pouvons constater en premier lieu, une inversion des taux et pourcentages par rapport aux sujets normaux.

Ainsi, la LDH myocardique devrait représenter 50 à 70 % de la normale avec les réactifs employés.

Un tel taux n'existe que chez une seule malade dont par ailleurs l'élévation de la LDH totale dépassait à peine la normalité.

2°) Dans douze cas sur treize nous retrouvons une élévation considérable de la LDH type hépatique dont les taux varient en pourcentage entre 55 et 60 %.

3°) Il convient de noter cette fixité du pourcentage malgré la discordance existant entre les taux de LDH totale.

En conclusion nous observons une inversion des proportions des LDH quels que soient le sexe, l'âge ou les thérapeutiques subies, et des pourcentages voisins.

B) CIRRHOSES DECOMPENSEES.

1°) Si l'élévation de la LDH hépatique est encore plus nette que dans les cirrheses compensées, il est à noter une élévation concomitante des taux de LDH myocardique.

2°) Les pourcentages de LDH hépatique obtenus varient de 50 à 70 %.

Ils sont voisins de ceux rencontrés au cours des cirrheses compensées mais les taux des deux fractions hépatique et myocardique sont beaucoup plus élevés.

3°) Dans un cas, celui où le taux de LDH totale était le plus élevé, la LDH de type myocardique dépasse la LDH de type hépatique, mais si les pourcentages sont normaux, les taux sont très élevés et témoignent d'une participation cardiaque très probable.

4°) Il semblerait y avoir une corrélation entre les taux les plus élevés et l'âge des patients et on peut noter par ailleurs, la débilité physique due à l'altération de nombreux organes et notamment l'atrophie musculaire dans deux cas de poly-névrite sensitivo-motrice qui pourraient expliquer les variations de ces taux.

C) COMPARAISON ENTRE LES DIFFERENTS RESULTATS OBTENUS.

Comme nous l'avons souligné précédemment, il n'existe aucune corrélation satisfaisante entre les résultats obtenus par la plupart des auteurs, travaillant sur la cirrhose éthylique.

WIEME, VAN MAERCKE (98), KING (33) affirment une élévation de la dernière isoenzyme LDH₅.

ERICKSON et MORALES (18) pensent qu'il y a de façon concomitante une élévation de la totalité des isoenzymes présents dans le sérum sanguin.

Une telle opposition en apparence fondamentale nous semble d'après les résultats étroitement dépendante du type de maladies considérés.

1) Dans les cirrroses compensées, avec élévation modérée de la LDH totale; l'état clinique de nos malades n'était pas très perturbé et l'état général assez peu altéré. Ils présentaient certes un gros foie et parfois des accidents éthyliques.

Les examens biologiques montraient une rétention de la BSP et pour certains une légère élévation des tests d'inflammation.

Mais seule la fraction de type hépatique LDH₄ et LDH₅ était augmentée en taux et en pourcentage.

2) Dans les cirrroses décompensées, avec élévation majeure de la LDH totale, l'âge des patients était plus avancé et la déchéance physique plus prononcée.

La biologie révélait des tests inflammatoires et d'insuffisance hépato-cellulaires plus marqués.

Les deux fractions hépatique et myocardique étaient augmentées quant à leur taux respectifs mais de façon proportionnelle, les pourcentages demeurant voisins.

Ainsi, il est difficile d'affirmer ce qui revient à la seule cirrhose ou aux troubles associés.

=====

ELECTROPHORESE DE LA L.D.H. AU COURS DE LA CIRRHOSE

ETHYLIQUE

Afin de comparer les résultats obtenus par la méthode spectrophotométrique, nous rapportons ici l'électrophorèse de cinq malades, atteints de cirrhose hépatique.

Nous rappelons que la méthode électrophorétique donne un fractionnement complet des cinq isoenzymes alors que la spectrophotométrie ne nous apportait que deux fractions type hépatique et coeur.

Il s'agit de cinq malades cirrhotiques décompensés présentant une altération-plus ou moins importante de l'état général.

A la lumière des résultats nous constatons en premier lieu une certaine variation des pourcentages.

En effet la LDH hépatique qui groupe $LDH_4 + LDH_5$ avoisine et dépasse dans certains cas 50 % de la LDH totale.

Un tel taux n'est jamais retrouvé au cours de l'électrophorèse où les variations oscillent entre 20 et 30 % de la LDH totale.

Par contre si l'on se réfère à la seule LDH_5 purement hépatique son taux dont la normale est de 1 à 3 % est constamment élevé dépassant parfois 10 %.

La concordance des résultats selon les deux méthodes nous permet d'affirmer l'élévation de la LDH_5 dans la cirrhose éthylique.

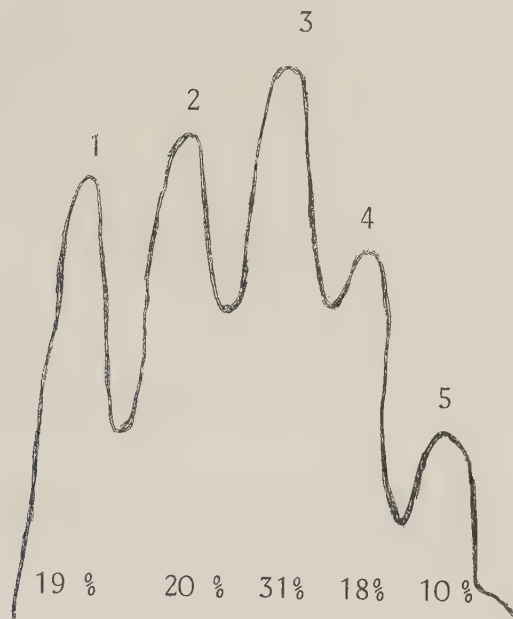
•
• •

RESULTATS OBTENUS EN ELECTROPHORESE

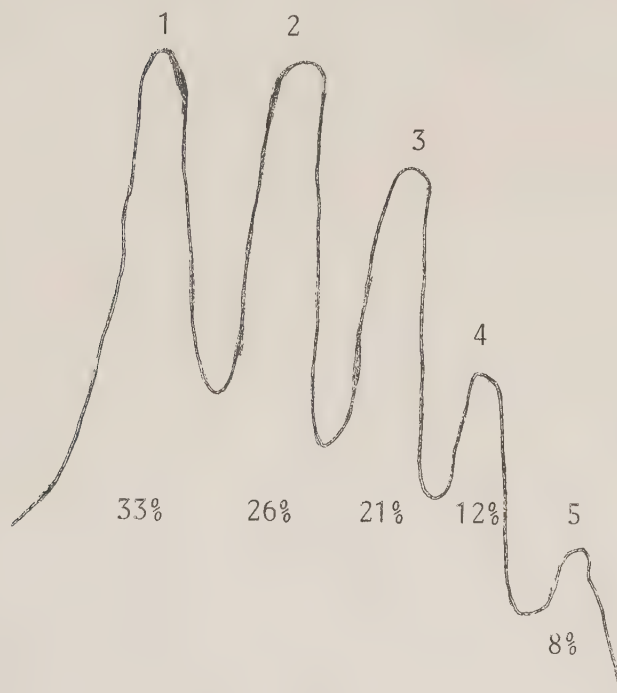
LDH TOTALE 240 mU à 360 mU

	Ier Malade	IIème	IIIème	IVème	Vème
LDH ₁	24 %	26 %	19 %	18 %	33 %
LDH ₂	31 %	29 %	22 %	28 %	26 %
LDH ₃	23 %	24 %	31 %	27 %	21 %
LDH ₄	8 %	12 %	18 %	14 %	12 %
LDH ₅	14 %	9 %	10 %	13 %	8 %

- 41 -
LDH TOTALE : 330 mU/ml



LDH TOTALE : 250 mU/ml



COURBES D'INTEGRATION ELECTROPHORETIQUE

CONCLUSION

Ainsi le dosage de la LDH totale et l'étude des iso-enzymes nous permet de constater :

- une élévation modérée portant essentiellement sur la fraction type hépatique au cours de la cirrhose compensée,
- une élévation majeure intéressant les cinq fractions isoenzymatiques au cours de la cirrhose décompensée.

De tels résultats nous semblent en faveur d'une altération tissulaire portant sur les différents parenchymes dans la cirrhose décompensée.

• • • • •

VARIATION DU TAUX DES ISOENZYMES DE LA L.D.H.
AU COURS DE L'ANESTHESIE CHEZ LE CHIEN

• • • • •

INTRODUCTION

Une deuxième série d'expérimentation nous a amené à considérer les variations de la LDH totale et de ses isoenzymes sous anesthésie chez le chien avec ou sans intervention chirurgicale.

Le taux sérique de la lactico-déshydrogénase (LDH) varie en même temps que celui d'autres enzymes :

transaminases, phosphatases,
ornithine - carbamyl - transférase, aldolase,

dans diverses affections ou intoxications et après intervention chirurgicale.

Ce dernier point a attiré notre attention : tout anesthésique pouvant avoir une certaine action agressive vis-à-vis de diverses cellules, quelle est la part de l'anesthésie dans l'augmentation post-opératoire de la LDH sérique ?

TECHNIQUES.

A - MODE DE PRELEVEMENT.

Nous avons fait des prélèvements de sang veineux, en vue de dosage de la LDH par cathétérisme de la veine jugulaire.

- a) - avant l'anesthésie,
- b) - une heure après,
- c) - deux heures après.

Deux anesthésiques ont été étudiés :

- CHLORALOSE : à la dose de 8 cg:Kg par voie IV,
- PENTOBARBITAL : 30 à 40 mg/kg par voie IV.

Notre matériel était constitué de dix chiens dont deux, anesthésiés au chloralose, avaient subi une opération portant sur l'hypophyse. Ils étaient tous de race et de poids différents.

B - DOSAGE.

Le sang ainsi prélevé était porté à la centrifugation, le sérum recueilli dans des tubes à hémolyse.

Nous avons systématiquement éliminé les sérums hémolysés car les globules sont 160 fois plus riches que le plasma en LDH.

I - Principes.

Le dosage de la LDH est effectué par absorption dans l'ultra-violet de la forme réduite du coenzyme : NADH. Nous avons utilisé un spectrophotomètre qui permet de suivre instantanément la disparition du NADH par lecture directe de la densité optique.

Pour la séparation des isoenzymes, nous avons utilisé la méthode de MESS et WALTER qui consiste en l'adsorption sur DEAE- cellulose, par contact, de la LDH type coeur.

On dose alors dans le surnageant la LDH type hépatique.

II - Résultats.

Cette méthode rapide donne cependant un fractionnement : insuffisant.

En effet, l'isoenzyme type coeur retenu est un mélange de deux isoenzymes LDH 1 + LDH 2 et celle non adsorbée un mélange de trois isoenzymes LDH 3 + LDH 4 + LDH 5.

TRAVAUX ANTERIEURS.

Il est difficile de se référer aux travaux d'autres auteurs en raison du très petit nombre de publications parues sur ces sujets et du laconisme qui accompagne les résultats obtenus.

Les résultats sont, en outre, quelque peu différents selon la méthode utilisée : spectrophotométrie ou électrophorèse qui permet la séparation des cinq fractions isoenzymatiques.

Il semble cependant y avoir une certaine concordance dans les proportions retrouvées et l'on peut être affirmatif en précisant que la seule anesthésie entraîne une déficience cellulaire qui se manifeste entre autre, par le passage de la LDH enzyme cellulaire dans le sang circulant.

VARIATIONS AU COURS DE L'ANESTHESIE PAR LE CHLORALOSE.

A) Sans intervention chirurgicale.

CHIEN N° I - 1 - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	100 mU/ml
1 heure après	180 mU/ml
2 heures après	185 mU/ml

Soit une élévation de 55 % et 58 % à la fin de la seconde heure.

CHIEN N° I - 2 - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 65 mU/ml	65 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 35 mU/ml	35 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	66 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 60 mU/ml	33 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	64 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 65 mU/ml	35 %

CHIEN N° II - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	120 m U/ m l
1 heure après	200 mU/ml
2 heures après	240 mU/ml

CHIEN N° II - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant Anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 80 mU/ml	66 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 40 mU/ml	34 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 130 mU/ml	65 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 70 mU/ml	35 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 150 mU/ml	60 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 90 mU/ml	40 %

B) Après intervention chirurgicale

CHIEN N° III - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	130 mU/ml
1 heure après	260 mU/ml
2 heures après	320 mU/ml

CHIEN N° III - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 85 mU/ml	60 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 45 mU/ml	40 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 140 mU/ml	55 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 120 mU/ml	45 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 160 mU/ml	50 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 160 mU/ml	50 %

CHIEN N° IV - 1 - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	120 mU/ml
1 heure après	280 mU/ml
2 heures après	320 mU/ml

2 - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 80 mU/ml	66 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 40 mU/ml	33 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 160 mU/ml	57 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 120 mU/ml	43 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 160 mU/ml	50 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 160 mU/ml	50 %

INTERPRETATION DES RESULTATS
AU COURS DE L'ANESTHESIE PAR LE CHLORALOSE

A) - LDH TOTALE

Au sujet de la LDH totale, deux séries de constatations peuvent être faites :

Tout d'abord, la remarquable constance des valeurs des taux obtenus avant l'anesthésie chez des chiens qui rappellent le étaient supposés exempts de toute affection ou intervention chirurgicale antérieure.

Les chiffres obtenus varient entre 100 et 130 mU/ml avant anesthésie et intervention.

Par contre, les pourcentages obtenus après les première et deuxième heures montrent une différence significative entre les chiens seulement anesthésiés et ceux soumis à une intervention chirurgicale en faveur probablement d'une lyse cellulaire.

Cependant aucune conclusion ne peut être portée tout au plus l'hypothèse d'une souffrance organique entraînant le passage de l'enzyme dans le sang.

B) - LES ISOENZYMES DE LA LDH

- Avant toute interprétation, il faut rappeler que le fractionnement obtenu correspond à deux types de LDH classiquement appelés type coeur et hépatique mais qui sont en réalité la somme de LDH1 + LDH2 pour la LDH type coeur, et LDH3 + LDH4 + LDH5 pour la LDH type hépatique.

Seul un fractionnement de type électrophorétique aurait permis la séparation en cinq isoenzymes différentes.

Cette réserve ayant été faite nous pouvons apporter deux types de constatations :

Au cours de la seule anesthésie chez le chien, l'élévation de la LDH type coeur est proportionnelle à l'élévation de la LDH type hépatique, les pourcentages obtenus oscillant entre 30% LDH hépatique et 60% LDH type coeur.

Par contre, au cours des deux interventions portant sur l'"Hypophyse", la proportion tend à s'équilibrer vers la deuxième heure, le pourcentage de LDH3 + LDH4 + LDH5 hépatique s'élevant aussi élevé que celui de la LDH1 + LDH2 type coeur.

VARIATIONS AU COURS DE L'ANESTHESIE

PAR LE PENTOBARBITAL

Nous avons opéré sur un lot de six chiens soumis à la seule anesthésie.

Mais le PENTOBARBITAL étant un barbiturique inducteur de l'anesthésie et de durée d'action brève, nous avons été obligés afin de prolonger le sommeil d'augmenter les posologies initiales compte tenu du poids et de la surface corporelle des chiens anesthésiés.

Il s'agit de chiens n° IV et n° VI qui présentaient le lendemain un retard au réveil, et une vigilance quelque peu diminuée.

ANESTHESIE PAR LE PENTOBARBITAL

CHIEN N° I - Variations de la LDH totale

	TAUX DE LDH SERIQUE
Avant anesthésie	95 mU/ml
1 heure après	160 mU/ml
2 heures après	180 mU/ml

CHIEN N° I - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 60 mU/ml	67 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 35 mU/ml	33 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	75 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 40 mU/ml	25 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	66 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 60 mU/ml	33 %

CHIEN N° II - Variation de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	110 mU/ml
1 heure après	180 mU/ml
2 heures après	200 mU/ml

CHIEN N° II - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 70 mU/ml	64 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 40 mU/ml	36 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	66 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 60 mU/ml	33 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 125 mU/ml	68 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 75 mU/ml	32 %

CHIEN N° III - Variations de la LDH totale

TAUX DE LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	130 mU/ml
1 heure après	170 mU/ml
2 heures après	220 mU/ml

CHIEN N° III - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur: 70 mU/ml	55 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 60 mU/ml	45 %
1 heure après	1- LDH1 + LDH2 type coeur: 90 mU/ml	53 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 80 mU/ml	47 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur: 120 mU/ml	55 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 100 mU/ml	45 %

CHIEN N° IV - 1 - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	160 mU/ml
1 heure après	180 mU/ml
2 heures après	250 mU/ml

CHIEN N° IV - 2 - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 90 mU/ml	56 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 70 mU/ml	44 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 95 mU/ml	53 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 85 mU/ml	47 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 140 mU/ml	59 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique	41 %

CHIEN N° V - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	110 mU/ml
1 heure après	160 mU/ml
2 heures après	180 mU/ml

CHIEN N° V - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH3 type coeur 65 mU/ml	59 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 45 mU/ml	41 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 105 mU/ml	65 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 55 mU/ml	35 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 110 mU/ml	61 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 70 mU/ml	39 %

CHIEN N° VI - Variations de la LDH totale

TAUX DE LA LDH SERIQUE	
Avant anesthésie	120 mU/ml
1 heure après	180 mU/ml
2 heures après	220 mU/ml

CHIEN N° VI - Variations des isoenzymes de la LDH

	TAUX	POURCENTAGE
Avant anesthésie	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 70 mU/ml	58 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 50 mU/ml	42 %
1 heure après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 105 mU/ml	58 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 75 mU/ml	42 %
2 heures après	1 - LDH1 + LDH2 type coeur 120 mU/ml	54 %
	2 - LDH3 + LDH4 + LDH5 type hépatique 100 mU/ml	46 %

INTERPRETATION DES RESULTATS AU COURS
DE L'ANESTHESIE PAR LE PENTOBARBITAL

A) - LDH TOTALE

Sur les chiens paraissant exempts de toute affection et d'expérimentation préalable, nous notons une faible différence entre les résultats obtenus sur chaque chien avant l'anesthésie.

Il existe cependant une différence plus marquée entre la deuxième heure et la troisième heure en cours d'anesthésie ce qui signifierait que pour une anesthésie prolongée, le pentobarbital devient plus toxique pour le foie ; il est vrai que dans deux cas nous avons dû prolonger l'endormissement par l'administration d'une dose plus forte.

En dépit de ceci, les chiffres obtenus par anesthésie au pentobarbital diffèrent assez peu de ceux obtenus par l'anesthésie au chloralose.

Anesthésique de durée brève, il semble que l'on puisse affirmer qu'une prolongation de l'anesthésie par le pentobarbital obligeant à augmenter les doses entraînerait une souffrance cellulaire peut-être par augmentation de la perméabilité membranaire.

B) - LES ISOENZYMES DE LA LDH

En ce qui concerne les isoenzymes de la LDH, il semble que l'on puisse être plus affirmatif sur les conclusions à en tirer.

En effet, les proportions de la LDH type hépatique par rapport à la LDH type coeur, restent sensiblement identiques et ce quelle que soit l'heure du prélèvement.

La LDH type hépatique oscille entre 35 % et 45 % pour 55 à 65 % pour la LDH type coeur.

Une telle proportion se retrouve au cours de l'anesthésie par le chloralose, là encore les résultats sont superposables.

L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - APPELLA E. and MARKERT C.L. - Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guanidine hydrochloride. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1961, 6, 171- 176.
- 2 - BAPTIST J.N. and VESTLING C.S. - Liver lactic dehydrogenase, further inhibition studies. Feder. Proc., 1957, 16, 150-160.
- 3 - BARNETT H. - Electrophoretic separation of lactate dehydrogenase isoenzymes on cellulose-acetate. Biochem. J., 1962, 84, 83 p.
- 4 - BARRON E.S.G. and SINGER T.P. - Studies on Biological oxidations. XIX. Sulfhydryl enzymes in carbohydrate metabolism, J. Biol. Chem., 1945, 157, 221-240.
- 5 - BISERTE G., FARRIAUX J.P., HOSTE A., GUINAMARD M.P. et FONTAINE G. La lactico-déhydrase sérique (LDH) et ses isoenzymes : technique d'étude et résultats chez l'enfant, Ann. Biol. clin., 1966, 663-667.
- 6 - BUSCH A. and NAIR P.V. - Inhibition of lactic acid dehydrogenase by fluoropyruvic acid. J. Biol. Chem., 1957, 229, 377-387.
- 7 - CABAUD P.G. and WROBLEWSKY F. - Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase activity of body fluids. J. Clin. Path. 1958, 30, 234-236.
- 8 - CARLSON (A.), SIEGELMAN A. et ROBERTSON T. - Glutamic dehydrogenase : II ; Activity in human serum, contrasted with that of lactic dehydrogenase and Glutamic oxalacetic transaminase, Amer. J. Clin. Pathol., 1962, 38, 260-272.
- 9 - CAHN R.D., KAPLAN N.O., LEVINE L. and ZWILLING L. - Nature and development of lactic dehydrogenase, Science, 1962, 136, 962-969.
- 10 - CHAFFEE R.R.J. and BARTIETT W.L. - Inhibition of lactic dehydrogenase by mercapto acids. Biochem. Biophys. Acta, 1960, 39, 370-372.

- 11 - CHILSON O.P., COSTELLO L. and KAPLAN N.O. - Studies on the mechanism of hybridization of lactic dehydrogenase in vitro,
Biochemistry, 1965, 4, 271-281.
- 12 - COHEN L. and DJORDJEVICH J. - Serum LDH patterns in cardiovascular and other diseases,
J. Lab. and Clin. Méd., 1964, 64, 355-374.
- 13 - COHEN L., DJORDJEVICH J. SALLY JACOBSEN - The Contribution of Isozymes of serum lactic dehydrogenase (LDH) to the Diagnosis of Specific Organ Injury,
Méd. Clin. N. Amer. 1966 - 50 - 193-209.
- 14 - DAWSON D.M., GOODFRIEN T.L. and KAPLAN N.O. - Lactic dehydrogenases : Functions of the two types,
Science, 1964, 143, 929-933.
- 15 - DEWEY M.M. and CONKLIN J.L. - Stark gel electrophoresis of lactic dehydrogenase from rat kidney,
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1960, 105 , 492-494.
- 16 - DREYFUS J.C. - Intérêt clinique des dosages enzymatiques dans le sérum : transaminases, lacticodéshydrogénase, créatine-phosphokinase,
G.M. de France - Tome 80, n° 7 du 16.11.1973 - 1101-1106.
- 17 - EMERSON P.M. and WILKINSON J.H. - Uréa and oxalate inhibition of the serum lactate dehydrogenase,
J. Clin. Pathol., 1965, 18, 803-807.
- 18 - ERICKSON R. et MORALES D. - Clinical use of lactic dehydrogenase. New Engl. J.Méd., 1961, 265, 478-482.
- 19 - FRITZ P.J. and JACOBSON K.B. - Lactic dehydrogenase : subfractionation of isozymes,
Science, 1963, 140, 64-65.
- 20 - FRITZ P.J., VESELL E.S., WHITE E.L. and PRUITT K.M. - The roles of synthesis and degradation in determining tissues concentrations of lactate dehydrogenase,
Proc. Nat. Sci. U.S.A., 1969, 52, 558-565.
- 21 - GIBSON D.M. , DAVISSON E.O., BACHKAWAT B.K., RAY B.R. and VESTLING C.S. - Rat liver lactic dehydrogenase I. Isolation and chemical properties of the crystalline enzyme,
J. Biol. Chem., 1953, 203, 397-409.
- 22 - GREEN D.E. and BROSTEAUX J. - The lactic dehydrogenase of animal tissues,
Biochem J., 1936, 30, 1489-1508.

- 23 - HAKALA M.T., GLAID A.J. and SCHWERT G.W. - Kinetics and Specificity of lactic dehydrogenase, Feder. Proc., 1953, 12, 213-221.
- 24 - VAN DER HELM H. et ZONDAG H. - Lactic dehydrogenase isoenzymes in myocardial infarction, Clin. Chim. Acta., 1962, 7, 540-544.
- 25 - VAN DER HELM H. - Simple method of demonstrating lactic acid dehydrogenase isoenzymes, Lancet, i, 1961, p.108.
- 26 - HESS B. - Enzymes in blood plasma. Acad. Press., New York, 1963, p. 74.
- 27 - HESS B. and WALTER S.J. - Chromatographic differentiation of lactate dehydrogenase of human tissue and serum, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1961, 94, 890-897.
- 28 - HILL J. - Serum LDH in cancer patients, J. Nat. Canc. Inst., 1957, 18, 307-313.
- 29 - HOLBROOK J.J. PFLEIDERER G., SCHNETGER J. and DIEMAIR S. - The importance of SH-groups for enzymic activity. IV-Preparation of the tryptic peptides containing the essential cysteine residues of lactate dehydrogenase, isozymes I and V. Bioch. Z., 1966, 344, 1-14.
- 30 - HSIEH K.M. and BLUMENTHAL H.T. - Serum lactic dehydrogenase levels in various disease states, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1956, 91, 626-630.
- 31 - JORDAN W.C. and WHITE W. - A standardized method for determination of the isozymes of lactate dehydrogenase of human serum, Clin. Chim. Acta., 1967, 15, 457-464.
- 32 - KAPLAN N.O. - Symposium on multiple forms of enzymes and control mechanisms I-Multiple forms of enzymes, Bact. Rev., 1963, 27, 155-169.
- 33 - KING J. - A routine for the estimation of lactic dehydrogenase activity, J. Med. Lab. Techn., 1959, 16, 165-272.
- 34 - KRIEG A.F., GORTON S. and HENRY J.B. - Effect of temperature on activity and lactate optima of LDH isoenzymes, Clin. Chim. Acta, 1967, 17, 363-366.

- 35 - LATNER A.L. and TURNER D.M. - Clinical application of the effect of acetone on serum lactate dehydrogenase, Lancet. 1963, 1, 1293-1294.
- 36 - LECLERC M. COSSON et VAGNER D. - Mesure d'activité de la déshydrogénase lactique, Ann. Biol. Clin. 1966, 24, 903-906.
- 36bis - LOWENTHAL, VAN SANDE, KARCHER - Heterogeneity of lactic and malic dehydrogenase in serum, Ann. N.Y., Acad. Sci., 1961, 94, 988-995.
- 37 - MARKERT C.L. - Lactate dehydrogenase isozymes : dissociation and recombination of subunits, Science, 1963, 140, 1329-1330.
- 38 - MARKERT C.L. - Developmental genetics, Harvey Lectures, 1965, 59, 187-218.
- 39 - MARKERT C.L. and APPELLA E. - Immunochemical properties of lactate dehydrogenase isozymes, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1963, 103, 915-929.
- 40 - MARKERT C. et MOLLER F. - Multiples forms of enzymes tissue ontogenic and species specific patterns, Proc. Nat. Acad. Sc. U.S., 1959, 45, 753-762.
- 41 - MEYERHOF O. und LOHMANN N.K. - Über atmung und Kohlehydratumsatz tierischer Gewebe. II - Über den Unterschied von d und l-Milchsäure für, Atmung und kohlehydrat-synthese im Organismus, Biochem. Z., 1926, 171, 421-435.
- 42 - MICHAELIS L. und MENTEN M.L. - Die Kinetik der Invertinwirkung, Biochem Z., 1913, 49, 333-369.
- 43 - LEILANDS J.B. - Studies on lactic dehydrogenase of heart, J. Biol. Chem., 1952, 199, 373-381.
- 44 - NEILANDS J.B. - Studies on lactic dehydrogenase of heart III - Action of inhibitors, J. Biol. Chem., 1954, 208, 225-230.
- 45 - NISSELBAUM J.S. and BODANSKY O. - Reactions of lactic dehydrogenase from various rabbit organs with antirabbit muscle lactic dehydrogenase, J. Biol. Chem., 1959, 234, 3276-3280.
- 46 - NISSELBAUM J.D. and BODANSKY O. - Purification and properties of human heart lactic dehydrogenase, J. Biol. Chem., 1961, 235, 323-327.

- 47 - NISSELBAUM J. et BODANSKY O. - Reactions of human LDH with anti-serum to human heart and liver LDH, J. Biol. Chem. 1961, 236, 401.
- 48 - NOVOA W.B., WINER A.D., GLAID A.J. and SCHWERT G.W.- Lactic dehydrogenase V-Inhibition by oxamate and by oxalate, J. Biol. Chem., 1959, 234, 1143-1148.
- 49 - PALOHEIMO J. et IKKALA E. - Serum LDH activity and isoenzyme patterns in some haematological disease, Acta. Med. Scand., 1965, 177, 115-120.
- 50 - PESCE A.J., MC KAY R.H., STOLZENBACH F.E., CZHN R.D. and KAPLAN N.O. - The comparative enzymology of lactic dehydrogenases. I - Properties of the crystalline beef and chicken enzymes, J. Biol. Chem., 1964, 239, 1753-1761.
- 51 - PFLEIDERER G. und JECKEL D. - Individuelle Milchsäuredehydrogenasen Bei verschiedenen Säugetieren, Biochem. Z., 1957, 329, 370-380.
- 52 - PFLEIDERER G., JECKEL D. und WIELAND T. -Zum Wirkungsmechanismus der Milchsäure-dehydrogenase. Die schützende Wirkung von Coenzym-Addukten gegenüber denaturierenden Agentien, Biochem. Z., 1957, 329, 104-111.
- 53 - PFLEIDERER G. und WACHSMUTH E.D.- Alters und Funktionssabhängige. Differenzierung der Laktadehydrogenases menschlicher Organe, Biochem. Z., 1961, 334, 185-198.
- 54 - PLAGEMANN P.G.W., GREGORY K.F. and WROBLEWSKI F. - The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. II-Properties and interrelations-hips of rabbit and human lactic dehydrogenases isozymes, J. Biol. Chem., 1960, 235, 2288-2293.
- 55 - PRESTON J.A., BRIERE R.O., BATSAKIS J.G. - Rapid electrophoretic separation of lactate deshydrogenase, Am. J. Clin. Pathol., 1965, 43; 256.
- 56 - PRUDEN E.L., CREASON P.L., CREASON M.T. and BLOCK W.D. - Protein, enzyme and isoenzyme distribution in human, serum fractions obtained by ultra-centrifugation, Clin. Chim. Acta., 1968, 20, 173-180.
- 57 - RAPP R.D. and BELL E.R. - Normal values for serum lactic dehydrogenase, Am. J. Clin. Path., 1961, 35, 116-117.

- 58 - RAYMOND S. and AURELL B. - Two dimensional gel electrophoresis,
Science, 1962, 138, 152-153.
- 59 - RAYMOND S. and WEINTRAUB L. - Acrylamid gel as a supporting medium for zone electrophoresis,
Science, 1959, 130, 711-728.
- 60 - REPORT of the commission on Enzymes of the international Union of Biochemistry 1961. Symposium Series, Vol. 20, London, Pergamon Press.
- 61 - RESSLER N. and JOSEPH R.R. - Simple method for electrophoretic analysis of serum lactic dehydrogenase,
J. Lab. Clin. Med., 1962, 60, 349-353.
- 62 - RESSLER N., SCHULZ J.L. and JOSEPH R.R. - Factors influencing the electrophoretic migration of lactic dehydrogenase isozymes,
J. Lab. Clin. Med., 1963, 62, 571-573.
- 63 - RINGOIR S. - Isoenzymes de la lacticodeshydrogenase,
G.M. de France - 1 - II - 1967, 580-586.
- 64 - RICHTERICH R., SCHAFFROTH P. and AEBI H. - A study of lactic dehydrogenase isoenzyme pattern of human tissues by adsorption elution on sephadex-DEAE,
Clin. Chim. Acta 1963, 8, 178-192.
- 65 - ROMAN W. - Quantitative estimation of lactate dehydrogenase isoenzymes in serum I-Review of methods and distribution in human tissue,
Enzymologia, 1969, 36, 189-219.
- 66 - ROMAN W., OON R.C.S., CAN R.TH. and RUYSS J. - Quantitative estimation of lactate dehydrogenase isoenzymes in serum. II-A simple routine method for the separation of the isoenzymes by heat stability,
Enzymologia, 1969, 36, 353-370.
- 67 - ROSNOWSKA M., SAWICKI Z. and KRAWCZYNSKI J. - Inhibition of lactate dehydrogenase isoenzymes activity by potassium oxalate and urea in some liver diseases,
Clin. Chim. Acta, 1968, 20, 7-10.
- 68 - ROSSMAN M.G., JEFFERY B.A., MAIN P. and WARRENS S. - The crystal structure of lactic dehydrogenase,
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1967, 57, 515-524.
- 69 - SAYRE F.W. and HILL B.R. - Fractionation of serum lactic dehydrogenase by salt concentration gradient elution and paper electrophoresis,
Proc. Soc. Exp. Biol., 1957, 96, 695-697.

- 70 - SCHAPIRA G. et DREYFUS J.C. - Lacticodehydrogenase plasmatique au cours des myopathies, C.R. Soc. Biol. , 1957, 151, 22-23.
- 71 - SCHOENENBERGER G. and RACKER W. - Isolation and characterisation of a lactic dehydrogenase (LDH) inhibitor of human urine, J. Clin. Investi., 1965, 44, 1096.
- 72 - SCHOLLER K.L., KOHNLEIN und CARSJENS R. - Uber den Einfluss verschiedener Narkosemittel auf die Enzymaktivitäten des menschlichen Serums, Anaesthesist, 1965, 14, 293-296.
- 73 - SCHWARTZ M.K. and BODANSKY O. - Lactic dehydrogenase (Clinical Aspects) in WOOD W.A., Methods in Enzymology, vol. IX, Carbohydrate Metabolism, Acad Press. N.Y. 1966, 9, 294-302.
- 74 - SIEST G. - Enzymes : valeurs de référence, variations physiologiques, Pharmacie Mondiale 1972, 31.12., 50-56.
- 75 - SOBER H.A. and PETERSON E.A. - Protein chromatography on ion exchange cellulose, Feder. Proc., 1958, 17, 1116-1126.
- 76 - SRERE P.A. - Enzyme concentrations in tissues, Science, 1967, 158, 936-937.
- 77 - STARK G. und CLAUDE B. - Der Einfluss der Narkose auf die Transaminasen (GOT, GPT) und Dehydrogenasen (LDH, MDH) im Serum, Anaesthesist, 1964, 13, 38-40.
- 78 - STRAUB F.B. - Crystalline lactic dehydrogenase from heart muscle, Biochem J., 1940, 34, 483-486.
- 79 - TERAYAMA H. and VESTLING C.S. - Sodium sulfide inhibition of liver lactic dehydrogenase, Biochem. Biophys. Acta 1956, 20, 586-587.
- 80 - THIERS R.E. and VALLEE B.L. - Analytical considerations in serum enzyme determinations, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1958, 75, 214-226.
- 81 - THOMPSON R.H.S. - Classification and nomenclature of enzymes. The commission on enzymes of the International Union of Biochemistry recommends measures of standardization, Science, 1962, 137, 405-408.
- 82 - TSAO M.U. - Heterogeneity of tissue dehydrogenases, Arch. Biochem., 1960, 90, 234-238.

- 83 - URIEL J. - Les isoenzymes Ann. 1967, 21, B 67-80.
- 84 - VALDIGUIE Annie - Action de certains anesthésiques sur la Lactico-déshydrogénase sérique,
Thèse de médecine, Toulouse n° 164, 1970.
- 85 - VALDIGUIE Jean - La Lactico-déshydrogénase et ses isoenzymes,
Rev. Méd. TOULOUSE, 1968, IV, PP.211-222.
- 86 - VALDIGUIE Paul - LARENG L. et FOURCADE A. - Intérêt du dosage des lactico-déshydrogénases sériques dans diverses intoxications,
Anesth. Anal. Réan., 1966, 23, 315-321.
- 87 - VESELL E.S. - Significance of the heterogeneity of lactic dehydrogenase activity in human tissues,
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1961, 94, 877-889.
- 88 - VESELL E.S. and BEARN A.G. - Localization of lactic acid dehydrogenase activity in serum fractions,
Proc. Soc. Exp. Biol., 1957, 94, 96-99.
- 89 - VESELL E.S. and ELLIOT S. - Lactate dehydrogenase isozymes : substrate inhibition in various human tissues,
Science, 1965, 150, 1590-1592.
- 90 - WARBURTON F.G. and SMITH D. - A simple method of differentiating between serum lactate dehydrogenase of cardiac origin and that derived from other tissues,
Enzymologia, 1963, 26, 125-132.
- 91 - WARBURTON F.G., SMITH D. and LAING G.S. - Inhibition of lactic dehydrogenase isoenzymes,
Nature, 1963, 198, 386-387.
- 92 - WIELAND T. and DETERMANN H. - Gradienten Chromatographie an DEAE sephadex,
Experientia, 1962, 18, 431-432.
- 93 - WIELAND T. und PFLEIDERER G. - Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenasen verschiedenen Ursprung durch Trägerelectrophorese,
Biochem. Z., 1957, 329, 1112-1116.
- 94 - WIEME R.J., DEMEULENAERE L. - Enzymo-électrophorèse de la déshydrogénase de l'acide lactique, test sélectif d'intégrité parenchymateuse (Acta Gastro-ent. BELGE, 1959, 22 : 69).
- 95 - WIEME R. - Application diagnostique de l'enzymo-électrophorèse des déshydrogénases de l'acide lactique,
Clin. Chim. Acta. 1959, 4, 46-50.

- 96 - WIEME R.J. - Studies on agar-gel electrophoresis.
Bruxelles, Arscia, 1959,
- 97 - WIEME R.J. - Improved agar support for electrophoresis of
LDH isoenzymes,
Clin. Chim. Acta, 1966, 13, 138-139.
- 98 - WIEME R.J. and VAN MAERCKE Y. - The fifth (electrophoretically slowest) serum lactic dehydrogenase as an index of liver injury,
Anna. N.Y. Acad. Sci. 1961, 94 , 898-911.
- 99 - WILKINSON J.H., COOKE K.B., ELLIOT B.A. and PLUMMER D.T. -
Some properties of human tissue lactic-dehydrogenases,
Biochem. J., 1961, 80, 29-30.
- 100 - WINER A.D. and SCHWERT G.W. - Lactic dehydrogenase. IV-The influences of pH on the kinetics of the reaction,
J. Biol. Chem. 1958, 231, 1065-1083.
- 101 - WROBLEWSKI F. and LA DUE J.S. - Lactic dehydrogenase activity in Blood,
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1955, 90, 210-213.
- 102 - WUNTCH T., CHEN R.F. and VESELL E.S. - Lactate dehydrogenase isozymes : kinetic properties at high enzyme concentrations,
Sciences, 1970, 167, 63-65.
- 103 - WRIGHT E.J., CAWLEY L.P., EBERHARDT L. - Clinical application and interpretation of the serum lactic dehydrogenase zymogram,
Am. J. Clin. Pathol. 1966, 45, 737-744.
- 104 - ZELITCH I. - Hydroxysulfonates as inhibitors of the enzymatic oxidation of glycolic and lactic acids,
J. Biol. Chem. 1957, 224, 251-260.

